

⑩日本国特許庁  
公開特許公報

⑪特許出願公開  
昭53-127896

⑫Int. Cl.<sup>2</sup>  
C 12 H 1/14

識別記号

⑬日本分類  
36(5) B 24

庁内整理番号  
7421-49

⑭公開 昭和53年(1978)11月8日

発明の数 1  
審査請求 有

(全 4 頁)

⑮噴きのないビールの製造法

大岡アパート

⑯特 願 昭52-42169

⑰出 願 昭52(1977)4月13日

⑱発 明 者 堀内剛

横浜市港北区錦が丘11-2

同

藪内精三

横浜市区南区大岡4-17-1 上

⑲発 明 者 鈴木了

吹田市泉町2-2-13 高風寮

同

天羽幹夫

東京都練馬区豊玉中1-1084

⑳出 願 人 朝日麦酒株式会社

東京都中央区京橋三丁目1番地

㉑代 理 人 弁理士 月村茂 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

噴きのないビールの製造法

2. 特許請求の範囲

1. 後発酵の期間中にシステインプロテアーゼを添加するビールの製造工程において、戸造後の発酵ないし製品となつたビールに、ストレプトマイセスナニワエンスの生産するペブシン阻害剤によつて活性が阻害される酸性プロテアーゼを添加することを特徴とする噴きのないビールの製造法。
2. システインプロテアーゼがババインである特許請求の範囲第1項記載のビールの製造法。
3. 酸性プロテアーゼを前発酵終了時の若ビールに添加する特許請求の範囲第1項記載のビールの製造法。
4. 酸性プロテアーゼを戸造時または戸造後のビールに添加する特許請求の範囲第1項記載のビールの製造法。
5. 酸性プロテアーゼの添加量が100ppm以

下である特許請求の範囲第1項記載のビールの製造法。

3. 発明の詳細な説明

この発明は噴きのないビールを製造する方法に関する。この発明で言う噴きとは、ビールの封入されたびんまたは缶のような容器を開けたとき、中のビールが急激に発泡して容器の口から溢れ出ることである。

ビールの噴きが起こる原因としては、乳酸カルシウムからなる微小結晶の存在、鉄イオンまたはニッケルイオンのような金属イオンの混在、懸濁または水素ガスの混在、天候不順時に栽培して収穫したカビ汚染大麦の使用、ホップエキス中の取る極の噴き誘発性物質の存在、などが多くの研究者によつて指摘されているが、すべてのビールの噴きの原因が明らかになつていない。現象的に観察されている噴き量について言えば、使用原料、醸造方法およびビールを容器に封入してから保存日数などによつて異なり、甚だしいときには容器内のビールの

約半分が溢れ出ることさえあるというように、  
噴き現象は質的量的に極めて多様である。

本発明者らが称している市場噴きも、まだその原因が十分に解明されていない噴きの1つである。この市場噴きの特徴は、ビールを容器に封入した直後には噴きが全く認められないが、これを市場で数週間放置しておくると徐々に噴きの兆候が現われてくることにある。この現象は頻度が多いにも拘らず、原因が不明なため今日まで対策がなされていなかった。

本発明者らは、市場噴きの原因を検討した結果、ある種の酸性プロテアーゼを用いることによつて市場噴きのないビールを造れることを見出した。本発明はこの知見に基づくもので、後発酵の期間中に寒冷湿潤防止のためにシステインプロテアーゼを添加するビールの製造工程において、伊過後の麦汁、発酵液をいし製品となつたビールに、ストレプトマイセスナニワエンス(*Streptomyces naniwaensis*)の生産するペプシン阻害剤によつて活性が阻害される酸性

プロテアーゼを添加するものである。

次に本発明を本発明に到達した過程にしたがつて詳しく説明する。

パペインなどのシステインプロテアーゼ

(Cysteine protease)は、ビールの寒冷湿潤防止剤として広く用いられているが、これらシステインプロテアーゼの使用が本発明で述べるビールの市場噴きを誘発しているという新事実が、本発明者らが行つた種々の実験結果から明らかになつた。その実験結果の1例を図-1に示すが、これらの結果は、寒冷湿潤防止剤としてパペインを使用し或いは使用しないでビールを製造し、これらのビールをそれぞれ6.33ml入のびんに入れて栓をしたものを25℃に保存して市場噴きがどのように出現してくるのかを調べたものである。表中、噴き量(ml)は、25℃で保存されている試料を0℃恒温室で72時間放置後、25℃恒温室で90分正置し、その後10秒で3回転、30秒正置後開栓してびんの口から溢れ出た液量をメスシリンダ

で測定したものである。

図-1

試料	噴 き 量					
	0日	15日	30日	45日	60日	75日
パペインを使用したビール	0 ml	0 ml	15 ml	35 ml	70 ml	75 ml
パペインを使用しないビール	0	0	0	0	0	0

図-1の実験結果から分るように、パペインを使用したビールは、30日間保存後に噴きが出始め、75日後まで噴きは徐々に増大していった。一方、パペインを使用しないビールは、75日後も噴きは全く生ぜず、パペイン使用の有無が市場噴きに強い影響を有していることが明らかとなつた。また同様な現象は、他のシステインプロテアーゼ、たとえばフィシン、プロメルリンなどをパペインの代りに使用した場合にも観察された。一方、他のグループに属するプ

ロテアーゼ、たとえばセリンプロテアーゼ

(Serine protease)などの使用は噴きを全く誘発せず、市場噴きがシステインプロテアーゼの性質に帰因するものであることが明白となつた。

さらに詳しく調べた結果、パペインなどのシステインプロテアーゼは、ビールの蛋白質およびペプチドに作用して、噴きの性質を持つた水に難け難い化合物の母体を作つていることが明らかとなつた。これらの化合物はいずれも、より低分子化されたペプチドを含む物質であるが、これらについての解析結果を通じて、本発明者らは、微生物であるストレプトマイセスナニワエンスが生産するペプシン阻害剤で活性が阻害される酸性プロテアーゼが、上記の噴きと関係のある物質を分解して噴きを抑制するということを見出した。上記のペプシン阻害剤は、多くの酸性プロテアーゼの内、ある共通した活性中心をもつ酵素に賦つてその活性を阻害する性質を有している。上記のペプシン阻害剤で活性

が阻害される酸性プロテアーゼの効果は、後述する実施例において説明するが、上記のペブシン阻害剤で活性が阻害されない酸性プロテアーゼ、たとえば微生物であるサイタリデニウムリグニコラム (*Soytalidium lignicolum*) の生産する酸性プロテアーゼの1種の使用は噴きを全く抑制せず、噴きの抑制作用が酸性プロテアーゼの上記ペブシン阻害剤に対する感受性の有無によつて分類されることが明らかとなつた。

本発明で使用する酸性プロテアーゼは、上述したように、ストレプトマイセスナニワエンスが生産するペブシン阻害剤で活性が阻害されるものであればよく、このような酸性プロテアーゼを生産する微生物としては、アスペルギルスニガー (*Aspergillus niger*)、アスペルギルスカルボリウス (*Aspergillus carbonarius*)、アスペルギルスフィシユウム (*Aspergillus ficum*)、アスペルギルスフェニクス (*Aspergillus phoenicis*)、アスペルギルスブルヘルレンタス (*Aspergillus pulverulentus*)、

アスペルギルスアワモリ (*Aspergillus awamori*)、アスペルギルスヘテロモルフス (*Aspergillus heteromorphus*)、アスペルギルスフエティダス (*Aspergillus foetidus*)、アスペルギルスアウレウス (*Aspergillus aureus*)、アスペルギルスヤボニカス (*Aspergillus japonicus*)、アスペルギルスアクレエタス (*Aspergillus aculeatus*)、アスペルギルスエルプタイクス (*Aspergillus ellipticus*)、アスペルギルスサイトイ (*Aspergillus saitoi*)、アスペルギルスソーヤ (*Aspergillus sojae*)、アスペルギルスイヌイ (*Aspergillus inui*)、アスペルギルスオリーゼ (*Aspergillus oryzae*)、リゾプスチャイネンシス (*Rhizopus chinensis*)、トラメテスサングニア (*Trametes sanguinea*)、ムコールプシリス (*Mucor pusillus*)、ムコールミハイ (*Mucor miehei*)、ペニシリウムデユボンテ (*Penicillium dupontii*)、ペニシリウムヤンテネリウム (*Penicillium janthinellum*)、エンドマイコバシスフィブリ

グラ (*Endomycopsis fibuligera*)、ロドトルラグルティニス (*Rhodotorula glutinis*) などが挙げられる。

本発明は上記のような酸性プロテアーゼを伊過後の麦汁、発酵液ないし製品となつたビールに添加するものであるが、その添加時期は、寒冷混濁防止のために後発酵期間中のビールに添加するシステインプロテアーゼの添加の前後あるいは添加と同時のいずれでもよい。更にシステインプロテアーゼと酸性プロテアーゼを混合しておき添加する方法も可能である。とくに前発酵終了時の若ビールあるいは伊過時または伊過後のビールに添加するのが好ましい。また、上記酸性プロテアーゼの添加量はシステインプロテアーゼの使用量の多少にかかわらず100 ppm以下が適当であり、100 ppm以上添加しても効果に変わりはない。なお、この添加量を規定するに当つて基準とした酸性プロテアーゼの力価は、次に示す測定法で最終発色液の吸光度が0.3前後を示すものであつた。

酵素活性の測定は、酸性プロテアーゼを含む酵素液1 mlに2%ミルカゼイン溶液1 mlを加え、至適 pH 下30℃で10分間反応させた後、0.4モルのトリクロル酢酸溶液2 mlを加え反応を停止させる。このものを伊過して得た伊液1 mlに0.4モルの炭酸ナトリウム溶液5 mlおよびフオリン試薬1 mlを加えて発色させ、ブランクを対照として660 mμで1.0 cmを用いて吸光度を測定する。

次に本発明の実施例を、酸性プロテアーゼの種類を変えた場合、添加時期を変えた場合、添加量を変えた場合について示す。

#### 実施例1

前発酵終了時の若ビールに、ババイン

20 ppmとアスペルギルスサイトイの生産する酸性プロテアーゼを換る濃度で加え、常法に従つて後発酵を終えたのち、各ビールを633 ml入のびんに封入し、これらを25℃に保存して市場噴きの試験を行つた。その結果を表-2に示す。この結果から明らかなよ

りに、酸性プロテアーゼの噴き抑制効果は顯著で、少量の添加でもその効果が認められる。

表-2

保存日数 酵素添加量	噴 き 量				
	0日	30日	60日	90日	120日
0 ppm	0 ml	10 ml	45 ml	60 ml	80 ml
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0

## 実施例 2

リゾブスチアイネンシスの生産する酸性プロテアーゼを、実施例 1 と同じ時期に 20 ppm 加えてビールを製造したのち、市場噴きを調べたところ、実施例 1 と同様の顕著な噴き抑制効果が認められた。

## 実施例 3

トラメテスサングニアの生産する酸性プロテアーゼを、実施例 1 と同じ時期に 2 ppm 加

グニア、ムコールブシリスおよびベニシリウムデユボンターの生産する各酸性プロテアーゼをそれぞれ実施例 4 と同様にビールに加え、市場噴きを調べたところ、何れも実施例 4 と同様の顕著な噴き抑制効果があつた。

よび 20 ppm 加えてビールを製造したのち、市場噴きを調べたところ、実施例 1 と同様の結果が得られた。

## 実施例 4

後発酵中にパパイン 18 ppm を添加して製造したビールにアスペルギリウスサイトイの生産する酸性プロテアーゼを加え、このビールを 633 ml 入のびんに封入して、25℃で 30 日間保存したのち、市場噴きを調べたところ、表-3 に示すような結果が得られた。

表-3

酵素添加量 (ppm)	噴 き 量 (ml)
0	50
4	7
8	0
15	0
30	0

## 実施例 5

リゾブスチアイネンシス、トラメテスサ

特許出願人 朝日麦酒株式会社

代理人 弁理士 月 村 茂

外1名